

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC  
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE – CEO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA– PPGZOO**

**JUAREZ TOMAZI FILHO**

**EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS A  
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO-FIXO COM DIFERENTES INTERVALOS  
PÓS-PARTO**

**CHAPECÓ  
2021**

**JUAREZ TOMAZI FILHO**

**EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS A  
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO-FIXO COM DIFERENTES INTERVALOS  
PÓS-PARTO**

Dissertação apresentada como requisito  
parcial para obtenção do título de mestre  
em Zootecnia pelo Programa de Pós-  
Graduação em Zootecnia da Universidade  
do Estado de Santa Catarina – UDESC.  
Orientador: Prof. Dr. Rogério Ferreira

**CHAPECÓ**

**2021**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CEO/UDESC,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Tomazi Filho, Juarez

Eficiência reprodutiva de vacas de corte submetidas a  
inseminação artificial em tempo-fixo com diferentes intervalos  
pós-parto / Juarez Tomazi Filho. -- 2021.

34 p.

Orientador: Rogério Ferreira

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de  
Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste,  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Chapecó, 2021.

1. Genótipo. 2. IATF. 3. Intervalo parto-IATF. 4. Bovino. I.  
Ferreira, Rogério. II. Universidade do Estado de Santa  
Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa  
de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

**JUAREZ TOMAZI FILHO**

**EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS A  
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO-FIXO COM DIFERENTES INTERVALOS  
PÓS-PARTO**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.  
Orientador: Prof. Dr. Rogério Ferreira

**BANCA EXAMINADORA**

Membros:

Rogério Ferreira, Dr.  
UDESC

Juliana Germano Ferst, Dra.  
UNIPAMPA

Rodrigo Dorneles Tortorela, Dr.  
UNISEP

Chapecó, 03 de março de 2021.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço:

Ao Professor Doutor Rogério Ferreira, pela orientação, conselhos e amizade durante esta trajetória;

Ao PPGZOO, corpo docente e colaboradores;

À Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) Oeste;

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação de Santa Catarina (FAPESC) e Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio a pesquisa;

Aos responsáveis das propriedades que cederam os animais para os experimentos;

Ao GERA/UDESC: Amanda e Tio Murilo pelos auxílios laboratoriais, Tio Clério e Tio Rogério pelo auxílio a campo. E todo o grupo, pelas várias noites de estudo e discussões de artigos e projeto que me ajudaram muito no meu desenvolvimento acadêmico;

À minha namorada, Izabely, por todo apoio, amor e carinho;

À minha família que me deram apoio, especialmente meus pais e irmãos que estão sempre ao meu lado;

À Deus pelo dom da vida!

## RESUMO

O objetivo foi determinar a relação do intervalo entre o parto e a inseminação artificial em tempo fixo (IP-IATF) e a eficiência reprodutiva de vacas *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* e determinar o melhor momento para realização das inseminações após o parto, em cada grupo genético. No experimento 1, foi realizado um estudo retrospectivo com IATF de 2709 vacas de diferentes origens (*Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*) com diferentes IP-IATF. Trinta dias após a IATF foi realizado o diagnóstico de gestação. No experimento 2, foram utilizadas 18 vacas de corte lactantes, *Bos taurus indicus*. As vacas foram alocadas em três grupos (n=6) de acordo com o IP-IATF: 40, 60 e 80 dias pós-parto. No dia -10, em relação ao dia da IATF, foi avaliado o escore de condição corporal (ECC) e colocado um implante vaginal de progesterona. No dia -2, foi retirado o pessário e foi realizada citologia endometrial, através da técnica de Cytobrush. Em todos os manejos, o diâmetro folicular foi avaliado por ultrassonografia. Não houve efeito do grupo genotípico ou sua interação com o IP-IATF sobre a taxa de prenhez. Utilizando a análise ROC, foi definido como 52 dias o IP-IATF que permite uma maior taxa de prenhez. Vacas que foram submetidas à IATF com IP-IATF superior a 52 dias tiveram uma taxa de prenhez superior em relação àquelas com IP-IATF inferior (54 vs 46%; P<0,001). O diâmetro do folículo pré-ovulatório foi superior aos 60 dias pós-parto, no entanto, taxa de ovulação não foi afetada pelo IP-IATF. O aumento do intervalo não promoveu a redução do número de PMN. Concluímos que o intervalo entre parto e o momento da IATF interfere na taxa de prenhez, porém sem um efeito ou interação com o genótipo; e que um IP-IATF superior a 52 dias promove um aumento na taxa de prenhez, independente do grupo genotípico.

**Palavras-chave:** Genótipo, IATF, Intervalo parto-IATF, Bovino.

## ABSTRACT

The objective was to determine the effect of calving to timed artificial insemination (C-TAI) interval on reproductive efficiency of *Bos taurus taurus* and *Bos taurus indicus* cows. Also, the aim was to determine the best C-TAI interval for carrying out timed artificial inseminations (TAI) after calving in each group. In experiment 1, a retrospective study was carried out, with data from 2709 inseminations in cows from different origins (*Bos taurus taurus* and *Bos taurus indicus*) and different C-TAI intervals. Thirty days after TAI a gestation diagnosis was performed. In experiment 2, 18 lactating beef cows were distributed into three groups (n=6) according to C-TAI interval: 40-, 60-, and 80-days post-partum. On day -10 relative to TAI, the body condition score was evaluated, and progesterone device was inserted; on day -2, progesterone implant was withdrawn, and endometrial cytology was performed using the Cytobrush technique. In all management, the follicular diameter was evaluated by ultrasound. The pregnancy rate increases in cows inseminated after 52 days of calving. The C-TAI interval affected the diameter of the preovulatory follicle and does not affect the ovulation rate. The increase in C-TAI interval did not promote a reduction in endometrial polymorphonuclear leukocytes. We conclude that C-TAI interval affects pregnancy rate in both *Bos taurus taurus* and *Bos taurus indicus* and we recommend a C-TAI larger than 52 days to increases TAI efficiency in beef cows.

**Keywords:** Genotype, TAI, Calving-TAI interval; Bovine.

## LISTA DE FIGURAS

- Figure 1. Pregnancy probability (A) and pregnancy rate of overall (B), Bos indicus (C) or Bos taurus (D) cows subjected to TAI protocol with different calving to timed artificial insemination intervals (C-TAI). Different letters indicate a significant difference between the C-TAI interval classes ( $P < 0.05$ ). The dotted line indicates the overall population mean. ..... 22
- Figure 2. A: Receiver operating characteristic (ROC) curve to achieve a pregnant cow on basis of calving-TAI interval. The dotted line is at larger sensitivity - (1 - specificity) value, that correspond 52 days of calving-TAI interval. B: Pregnancy rate in cows with an interval between calving and TAI equal to or less than 52 days or cows with an interval greater than 52 days. Asterisks (\*\*\*\*) indicate a highly significant difference between groups ( $p < 0.001$ ). AUC: area under the curve..... 23
- Figure 3. Diameter of the preovulatory follicle (POF) (A) body condition score (BCS) (B) and percentage of polymorphonuclear leukocytes (PMN) found in endometrial cytology using the Cytobrush technique (C) in cows with different intervals between calving and TAI. Different letters indicate a significant difference between groups ( $P < 0.05$ ). NS: Not significant difference ( $P \geq 0.05$ )..... 24

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>12</b>
2.1	INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) E INFLUÊNCIA DO GENÓTIPO .....	12
2.2	SAÚDE UTERINA NO PÓS-PARTO .....	14
2.3	EFICIÊNCIA REPRODUTIVA PÓS-PARTO .....	15
<b>3</b>	<b>ARTIGO 1: EFFECT OF CALVING TO TIMED ARTIFICIAL INSEMINATION INTERVAL ON FERTILITY OF BEEF COWS.....</b>	<b>17</b>
3.1	ABSTRACT .....	17
3.2	INTRODUCTION.....	18
3.3	MATERIALS AND METHODS.....	19
3.3.1	<b>Experiment 1.....</b>	<b>19</b>
3.3.2	<b>Experiment 2.....</b>	<b>19</b>
3.3.3	<b>Endometrial cytology .....</b>	<b>20</b>
3.3.4	<b>Statistical analysis .....</b>	<b>21</b>
3.4	RESULTS.....	21
3.4.1	<b>Experiment 1.....</b>	<b>21</b>
3.4.2	<b>Experiment 2.....</b>	<b>23</b>
3.5	DISCUSSION .....	25
3.6	CONCLUSION .....	27
3.7	ACKNOWLEDGMENTS .....	27
3.8	CONFLICT OF INTEREST STATEMENT.....	27
3.9	AUTHOR'S CONTRIBUTIONS .....	27
3.10	ETHICS COMMITTEE APPROVAL .....	27
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>28</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>29</b>
	<b>ANEXO A – COMPROVANTE DO CEUA.....</b>	<b>34</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O mercado de IATF está em expansão na última década, se tornando realidade nas propriedades. A taxa de prenhez após IATF é de, geralmente, entre 50% a 60% das matrizes submetidas aos protocolos (SÁ FILHO et al., 2010a; SALES et al., 2012; MADUREIRA et al., 2020). Diversos trabalhos têm sido executados para melhorar a eficiência dos protocolos de IATF, incluindo modificação no indutor de ovulação, concentração de progesterona presente no dispositivo vaginal (USLENGHI et al., 2014), dose extra de análogo de prostaglandina F2alfa (NÚÑEZ-OLIVERA; CUADRO; MENCHACA, 2019) e antecipação da aplicação do eCG (TORTORELLA et al., 2013). Estes trabalhos apresentam o mesmo objetivo parcial, alterar a combinação dos fármacos para aumentar a taxa de prenhez. No entanto, a influência do intervalo entre o parto e a IATF (IP-IATF) foi pouco estudada em vacas de corte.

Em situações de curto intervalo entre parto e inseminação artificial, as taxas de prenhez são afetadas negativamente (WILLIAMS; STANKO, 2020). Com a expansão da utilização da técnica e busca do IEP de 12 meses, as fêmeas são submetidas a inseminação a partir de 30 dias depois do parto, apresentando um curto intervalo de recuperação da saúde uterina para o estabelecimento da nova concepção (SILVEIRA et al., 2010).

Em vacas leiteiras, o período de espera voluntária é mais estudado. Geralmente recomenda-se entre 45 e 60 dias (STANGAFERRO; WIJMA; GIORDANO, 2019), havendo necessidade de mais tempo em primíparas (INCHAISRI et al., 2011). Em algumas situações o reestabelecimento da saúde uterina acontece tardiamente, o que afeta a eficiência reprodutiva (SHELDONS; DOBSON, 2003; RIBEIRO et al., 2013). Em vacas de corte *Bos indicus*

manejadas em condições tropicais, a saúde uterina e a fertilidade melhoram com o aumento do intervalo entre parto e a inseminação artificial (PFEIFER et al., 2018). Contudo, pelo conhecimento dos autores, não há estudos que determinem intervalo ideal entre o parto e a IATF em animais de diferentes origens.

Portanto, nosso objetivo é determinar a relação do intervalo entre o parto e a inseminação sobre a eficiência reprodutiva de vacas *B. taurus* e *B. indicus* submetidas a protocolo de IATF, permitindo estabelecer o intervalo ideal entre o parto e a inseminação. Ainda, nossa hipótese é que haja diferença no intervalo ideal entre o parto e a inseminação para animais de origem taurina ou india.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) E INFLUÊNCIA DO GENÓTIPO

A inseminação artificial (IA) é uma técnica mundialmente utilizada para disseminar genética em rebanhos de bovinos, a sua ampla utilização está associada com a possibilidade do controle do ciclo estral e ovulação em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). No mercado nacional, 87% das inseminações são por IATF e apenas 13% através de IA convencional, com observação de estro. A alavancagem do uso de IATF no Brasil ocorreu a partir de 2010, ano em que superou o uso da IA convencional (BARUSELLI, 2020).

A implantação da IATF deve levar em consideração diversos fatores na bovinocultura de corte, um deles é o genótipo das vacas. Como por exemplo, as fêmeas taurinas (*B. taurus*) atingem a puberdade precocemente, e diferentes padrões de ciclo estral, comportamento e concentrações hormonais circulantes, e maior diâmetro de folículo ovulatório e corpo lúteo, comparado a fêmeas indianas (*B. indicus*) (GIMENES et al., 2008; SARTORI et al., 2010). A utilização da IA segue como uma boa alternativa para melhoramento genético, indiferente da linhagem genética da fêmea. No entanto, é importante levar em consideração o genótipo da fêmea para a determinação das estratégias reprodutivas.

Na bovinocultura de corte, casos de prolongamento do retorno da ciclicidade no pós-parto se deve principalmente à presença do bezerro ao pé e deficiência nutricional. A amamentação pode resultar na inibição da frequência da pulsatilidade de LH, limitando o desenvolvimento folicular final e ovulação (WILLIAMS et al., 1996). A nutrição desbalanceada pode afetar a reprodução, reduzindo crescimento folicular e apresentando pulsatilidade insuficiente de LH para promover a maturação folicular (RHODES; ENTWISTLE; KINDER, 1996).

Entre os benefícios da utilização da IATF, se destaca a eliminação da detecção de estro, pois a associação de progesterona e estrógeno permite a regressão do folículo antral e emergência de uma nova onda de forma sincronizada e um controle relativamente preciso do momento da ovulação (BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003). Uma alternativa utilizada para incrementar o

crescimento folicular, especialmente em animais no pós-parto, é a suplementação com gonadotrofina coriônica equina (eCG) no protocolo hormonal, apresentando efeito semelhante ao FSH predominantemente (MURPHY; MARTINUK, 1991). Ainda que animais indianos apresentem maior sensibilidade às gonadotrofinas de modo geral (SARTORI et al., 2016), o uso do eCG promove resultados positivos principalmente em fêmeas em anestro (BARUSELLI et al., 2004).

As fêmeas *B. indicus* apresentam maior sensibilidade à progesterona, pois notou-se que elas mantêm o hormônio circulante em maiores concentrações (CARVALHO et al., 2008). O tempo de utilização de progesterona em protocolos de IATF, não apresentam efeitos significativos nas taxas de prenhez, podendo ser utilizado de 7, 8 ou 9 dias em fêmeas *B. indicus* (PRATA et al., 2020). O indutor de ovulação pode interferir nas taxas de prenhez, assim como o uso de GnRH no momento da IA permite incrementar a taxa de prenhez em algumas situações (MADUREIRA et al., 2020).

Diante do crescente mercado de IATF, aumenta o interesse de pesquisadores para validar informações e testar protocolos para que seja possível melhorar as taxas de prenhez, tanto em animais indianos como taurinos. Em vacas leiteiras o período de espera voluntária já está elucidado, de 45 a 60 dias (STANGAFERRO; WIJMA; GIORDANO, 2019), havendo necessidade de mais tempo em primíparas (INCHAISSRI et al., 2011), em algumas situações acontece tardivamente o reestabelecimento da saúde uterina, afetando a eficiência reprodutiva (SHELDONS; DOBSON, 2003).

Em situações de curto intervalo entre parto e inseminação artificial as taxas de prenhez são afetadas negativamente (WILLIAMS; STANKO, 2020). Com a expansão da utilização da técnica e busca do intervalo entre parto (IEP) de 12 meses, as fêmeas são submetidas a inseminação a partir de 30 dias depois do parto, apresentando um curto intervalo de recuperação da saúde uterina para o estabelecimento da nova concepção, ainda fêmeas que tiveram processo inflamatório uterino apresentam maior chances de perda gestacional (RIBEIRO et al., 2013). Desta forma, são necessários estudos para estabelecer o momento adequado para a primeira inseminação no pós-parto em vacas de corte.

## 2.2 SAÚDE UTERINA NO PÓS-PARTO

A saúde uterina geralmente é reestabelecida depois do período de involução uterina, o qual em situações não patológicas acontece cerca de 40 dias após o parto. Para a fêmea conceber novamente, é necessário a involução do tamanho do útero com a completa regeneração do endométrio e estar livre de contaminações bacterianas; além da retomada da ciclicidade. Porém, em algumas situações, ocorre a persistência de bactérias patógenas, podendo promover subfertilidade ou infertilidade (SHELDONS; DOBSON, 2003). A involução uterina inicia rapidamente logo após o parto, com contrações uterinas, descamação das carúnculas e regeneração endometrial (SHELDON et al., 2008).

Em conjunto com a involução uterina, ocorre a descamação das carúnculas, formação do lóquio, iniciando a regeneração intercaruncular do endométrio, completando a regeneração em torno de 25 dias após o parto na camada mais superficial. Contudo, este ambiente uterino pode apresentar presença de bactérias aeróbicas e anaeróbicas, as quais são removidas por mecanismos de defesa uterina, geralmente associada as espécies *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* e *Prevotella* (OLSON et al., 1984), as quais podem estar presentes simultaneamente, elevando as chances de doenças uterinas no pós-parto (RUDER et al., 1981).

Os casos de gestação gemelar e distocia no parto elevam as chances de retenção de placenta e as chances de patologias uterinas (JOOSTEN; SANDERS; HENSEN, 1991). A ocorrência de infecção uterina é determinada pela relação entre a imunidade, presença de patógenos e o ambiente uterino. Os sinais clínicos da doença são evidentes, como a descarga de material purulento do útero para a vagina, porém as situações mais complicadas são os casos que não apresentam sinais clínicos, conhecidos como subclínicos. As endometrites subclínicas podem estar presentes em até metade das vacas em até 60 dias pós-parto, as quais apresentam maior tempo para ficar gestante novamente (GILBERT et al., 2005).

As doenças uterinas são classificadas de acordo com o período pós-parto que se manifestam e os sinais clínicos apresentados. A metrite puerperal é quando apresenta útero aumentado com secreção fétida avermelhada ou

marrom, juntamente com sinais sistêmicos como hipertermia e redução da produção de leite, em até 21 dias após o parto. A metrite clínica é quando a fêmea apresenta o útero aumentado de tamanho, secreção, dentro dos 21 dias porém sem os sinais clínicos sistêmicos. A endometrite clínica é quando apresenta secreção uterina purulenta, com 21 dias ou mais após o parto, ou secreção mucopurulenta a partir de 26 dias. A endometrite subclínica é caracterizada pela presença de mais de 18% de neutrófilos na citologia uterina entre o dia 21 e 33 após o parto ou maior que 10% com mais de 34 dias. A piometra é caracterizada quando há presença de material purulento no útero, presença de corpo lúteo persistente e cérvix fechada (SHELDON et al., 2006).

A retenção de placenta é um fator de predisposição para infecção uterina e acomete principalmente primíparas, animais com doenças metabólicas aumentando as chances de serem descartadas (LARSON et al., 1985). Importante notar que tanto a contaminação microbiana durante o parto e nova contaminação no pós-parto, apresentam grandes chances de infecção (SHELDON et al., 2008). O diagnóstico pode ser realizado através da presença de conteúdo secretado pela vagina. Pode ser utilizado o vaginoscópio para avaliar a presença de muco na cérvix, e avaliação das suas características (SHELDON et al., 2006).

### 2.3 EFICIÊNCIA REPRODUTIVA PÓS-PARTO

O anestro pós-parto prolongado contribui para a elevação do IEP, para cerca de 17 a 19 meses (VASCONCELOS et al., 1999), e estende-se em vacas com baixo ECC (BARUSELLI et al., 2004). Pois contamos com a leptina que é uma adipocitocina, um sinal adipostático ao cérebro e aos tecidos periférico sobre o balanço energético e reservas corporais. Assim é uma forma em que a nutrição afeta a reprodução, pois poderá alterar a síntese de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), esteróides e progesterona (DISKIN et al., 2003). Entre as alternativas para acelerar o retorno a ciclicidade da fêmea, pode ser a suplementação alimentar, porém apresenta algumas limitações em relação ao custo de produção (BAYARD et al., 2001). A utilização de indução de estro pós-parto com auxílio hormonal é uma estratégia em expansão de uso (BARUSELLI, 2020).

Logo após o parto, ocorre o reestabelecimento das concentrações do hormônio folículo estimulante (FSH) no plasma, promovendo a primeira onda folicular pós-parto. Estes eventos ovarianos acontecem normalmente no pós-parto, mesmo em casos de BEN leve. Porém, o folículo dominante do pós-parto poderá ovular, retornando a ciclicidade, ou sofrer a atresia continuando ao estado de anestro, dependendo da pulsatilidade de LH para ovular (BEAM; BUTLER, 1997).

Animais com histórico de doenças uterinas podem apresentar função ovariana anormal, como fase lútea estendida e ovulações atrasadas (OPSMER et al., 2000). A infertilidade principalmente está ligada aos animais que apresentam a doença subclínica, pois são casos de difícil mensuração do seu efeito negativo mesmo após a cura das doenças uterinas, portanto afeta o sistema endócrino e fisiológico do animal, além do processo inflamatório da doença. A presença infecções uterinas tem relação negativa com o tamanho do folículo dominante e concentrações de estrógeno (SHELDON et al., 2002; RIBEIRO et al., 2013).

É necessário que o endométrio esteja saudável para sobrevivência do embrião no útero, o qual deve estar estéril. Em casos de contaminação, o útero apresenta resposta imune mais acentuada (SEMAMBO et al., 1991), devido a contaminação que ocorre durante o parto, por bactérias presentes que ascendem do trato genital. Vacas que apresentam contaminação uterina no pós-parto levam 27% mais de tempo para ficar gestante novamente e ainda apresentam menor vida reprodutiva (LEBLANC et al., 2002).

As doenças uterinas, principalmente de forma subclínica, apresentam grande prejuízos na cadeia produtiva, apresentam maior presença e efeito no pós parto precoce do que tardio. Desta forma promovendo maior intervalo parto e concepção, elevando o intervalo entre parto, em fêmeas inseminadas precoce (RICCI et al., 2017).

### 3 ARTIGO 1: EFFECT OF CALVING TO TIMED ARTIFICIAL INSEMINATION INTERVAL ON FERTILITY OF BEEF COWS

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de artigo submetido, com a seções de acordo com as orientações da Revista Reproduction in Domestic Animals.

Autores:

Juarez Tomazi Filho<sup>1</sup>, Luiz Francisco Machado Pfeifer<sup>2</sup>, Clério Antônio Hoefle<sup>3</sup>, Murilo Farias Rodrigues<sup>1</sup>, Rogério Ferreira<sup>1\*</sup>

#### 3.1 ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the effect of calving to timed artificial insemination (C-TAI) interval on fertility of *Bos taurus* and *Bos indicus* cows, and to determine the best C-TAI interval to include postpartum cows in TAI programs in each genotype (*B. taurus* and *B. indicus*). In experiment 1, a retrospective study was carried out, with data from 2709 TAI in *B. taurus* and *B. indicus* cows with different C-TAI intervals. There was a positive linear effect of C-TAI interval on the pregnancy probability ( $P < 0.0001$ ; Fig. 1A). However, there was no effect or interaction with the genotype. When C-TAI intervals were grouped in classes, pregnancy rate differed in groups, regardless of genotype ( $P < 0.05$ ). Receiver operating characteristic (ROC) analysis was performed to determine the C-TAI interval in which the female would be more likely to become pregnant, and we calculated 52 days of C-TAI interval. According to previous result, we further stratified into two C-TAI interval groups ( $\leq 52$  days or  $> 52$  days). Cows with C-TAI longer than 52 days (C-TAI $>52$ ) had higher pregnancy rate (56%) than cows with short C-TAI (46%;  $P < 0.01$ ). In experiment 2, 18 postpartum beef cows were allocated into three groups ( $n=6$ ) to receive TAI protocol at specific C-TAI intervals: 40, 60 or 80 days postpartum. Cows with 60 days of C-TAI had a higher preovulatory follicle than cows with 80 days postpartum ( $P < 0.05$ ). The C-TAI interval did not affect the ovulation rate nor endometrial polymorphonuclear leukocytes. We conclude that C-TAI interval affects pregnancy rate in both *B. taurus* and *B. indicus*. We recommend a C-TAI

interval longer than 52 days to increase fertility of beef cows included in TAI programs.

**Key words:** endometrial cytology, reproductive efficiency, pregnancy rate.

### 3.2 INTRODUCTION

The timed artificial insemination (TAI) market has been expanding in the last decade, becoming a reality in agricultural properties. The pregnancy rate after TAI is generally between 50% to 60% of the cows subjected to the protocols (SÁ FILHO et al., 2010b; SALES et al., 2012; MADUREIRA et al., 2020). Several studies have been carried out to improve the efficiency of TAI protocols, including modifications of ovulation inducers, the concentration of progesterone present in the vaginal device (USLENGHI et al., 2014), an extra dose of prostaglandin analog F2alpha (NÚÑEZ-OLIVERA; CUADRO; MENCHACA, 2019) and use of equine chorionic gonadotropin (eCG) at different times (TORTORELLA et al., 2013). These studies have the same partial objective, to change the combination of drugs to increase the pregnancy rate of beef cows submitted to TAI protocols. Nevertheless, the influence of the interval between calving and TAI (C-TAI) has not been well studied in beef cows.

In cases of short intervals between calving and AI, pregnancy rates are negatively affected (WILLIAMS; STANKO, 2020). With the expansion of the use of TAI and search for the 12-month of calving interval, females are subjected to insemination from 30 days after calving (CREPALDI et al., 2019), which is a short interval to the reestablishment of the uterine health for establishing a new conception (SILVEIRA et al., 2010).

In dairy cows, the voluntary waiting period is better studied. It is generally recommended to wait 45 to 60 days (STANGAFERRO; WIJMA; GIORDANO, 2019), with a need for more time in primiparous cows (INCHASRI et al., 2011). In some situations, the reestablishment of uterine health occurs later, affecting reproductive efficiency (SHELDON et al., 2002; RIBEIRO et al., 2013). In nelore (*B. indicus*) cows raised under tropical conditions, uterine health and fertility improve with increasing intervals between calving and TAI (PFEIFER et al., 2018). However, to the best of our knowledge, no studies determine the ideal interval between parturition and TAI in cows from different genetic groups.

Based on these considerations, our objective was to determine the relationship of the interval between calving and insemination on the reproductive efficiency of *Bos taurus taurus* and *Bos taurus indicus* cows subjected to the TAI protocol, allowing the establishment of the ideal interval between calving and insemination. We hypothesized a difference in the ideal interval between parturition and insemination for *B. taurus* and *B. indicus*.

### 3.3 MATERIALS AND METHODS

#### 3.3.1 Experiment 1

This was a retrospective study of 2709 cows subjected to TAI, with different C-TAI intervals. Data were from cows of different genotypes, 1638 *Bos taurus* cows and 1071 *Bos indicus* cows. The animals were located on different farms in the south and north of Brazil.

The cows were subjected to an estradiol progesterone-based TAI protocol. On day -10 (D-10), they received 2 mg of estradiol benzoate intramuscularly (IM) and an intravaginal progesterone (P4) insert. On day -2 (D-2), females received 0.482 mg of cloprostenol sodium IM, and the intravaginal P4 insert was removed. Estradiol cypionate (1 mg; D-2) or estradiol benzoate (1 mg; D-1) were used as ovulation inducer. Timed AI was performed 48 hours after P4 insert removal, considered as day 0 (D0). The animals were grouped into six classes with intervals of 10 days, forming groups <40, 40 to 49, 50 to 59, 60 to 69, 70 to 79, and ≥ 80 days, to assess the effect of C-TAI interval on pregnancy rate.

Pregnancy diagnosis was performed 30 days after insemination using ultrasonography by a trained technician. Females were considered pregnant when the embryonic vesicle and embryo were identified.

#### 3.3.2 Experiment 2

Eighteen multiparous lactating beef cows (*B. indicus*), 4 to 8 years with body condition score (BCS) of  $2,9 \pm 0,06$  (0 = lean to 5 = obese; AYRES et al., 2014) with no history of dystocia or reproductive disorders, located on a commercial property in the southwest of Paraná. Cows were raised in an

extensive production system with ad libitum offer of pasture (*Brachiaria brizantha*), water, and mineral salt.

Cows were randomly assigned to undergo TAI at 40 ( $38\pm1$ ), 60 ( $58\pm1$ ), or 80 ( $78\pm3$ ) days between calving and insemination. The hormonal protocol started on D-10, using an intravaginal P4 insert with 1g of P4 (PRIMER®, Tecnopec, São Paulo, Brazil) and 2 mg of estradiol benzoate (RIC-BE®, Tecnopec, São Paulo, Brazil), administered IM, and on D-2, the intravaginal P4 insert was removed, and endometrial cytology performed using the Cytobrush technique. We gave 1 mg of estradiol cypionate (ECP®, Pfizer, Cravinhos, Brazil) and 0.482 mg of sodium cloprostenol (Sincrocio®, Ouro Fino, São Paulo, Brazil) IM. On D0, 48 hours after the P4 insert removal, AI was performed in all females by a single technician. After insemination, the development of the preovulatory follicle was monitored at 12-hour intervals until ovulation or atresia, up to two days after insemination. Ovulation was characterized by the absence of the dominant follicle and the presence of the hemorrhagic body in the same ovary. The ovarian structures of the females were measured using a Mindray ultrasonographic device (model DP10Vet) with a transrectal linear transducer at 7.5 MHz.

### **3.3.3 Endometrial cytology**

The Cytobrush technique was performed as described by (KASIMANICKAM et al., 2005). Before collection, the vulva was cleaned with running water and dried with a paper towel, and the brush protected by a cannula and sanitary sheath was introduced through the vagina and cervix until reaching the body of the uterus. Before entering the cervix, the sanitary jacket was withdrawn, and the brush was exposed to the body of the uterus. Samples were collected by rotating the brush clockwise when in contact with the uterine wall. Afterward, the brush was retracted into the cannula, and the assembly was removed from the female genital tract.

The slides for cytology examination were prepared by rolling the brush, and after drying in the air, they were stained using the Panoptic technique. Each slide was examined by optical microscopy (1000 times magnification in an immersion objective) to count 200 cells, establishing the number of polymorphonuclear leukocytes (PMN). Two adequately trained technicians

performed the count. Slides in which there was a difference greater than 10% between the two evaluators were recounted. The result was calculated as the arithmetic mean of the two evaluators, transformed into percentages.

### **3.3.4 Statistical analysis**

The effect of C-TAI interval, genotype (*Bos indicus* or *Bos taurus*) and their interaction on pregnancy rate were analyzed using logistic regression. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to determine the cut-off point for the pregnancy rate, that is, the C-TAI interval that determines better pregnancy rates, with larger value of sensitivity - (1 - specificity). The odds ratio to cow become pregnant was calculated in 10 days range of C-TAI interval.

The effect of C-TAI interval groups on binomial variables (ovulation and pregnancy rate) was also analyzed by logistic regression followed by contrasts to determine the differences between classes. The effect of C-TAI interval groups on continuous variables (follicular diameter, BCS and PMN) was determined using analysis of variance followed by Student's t as a post-hoc test.

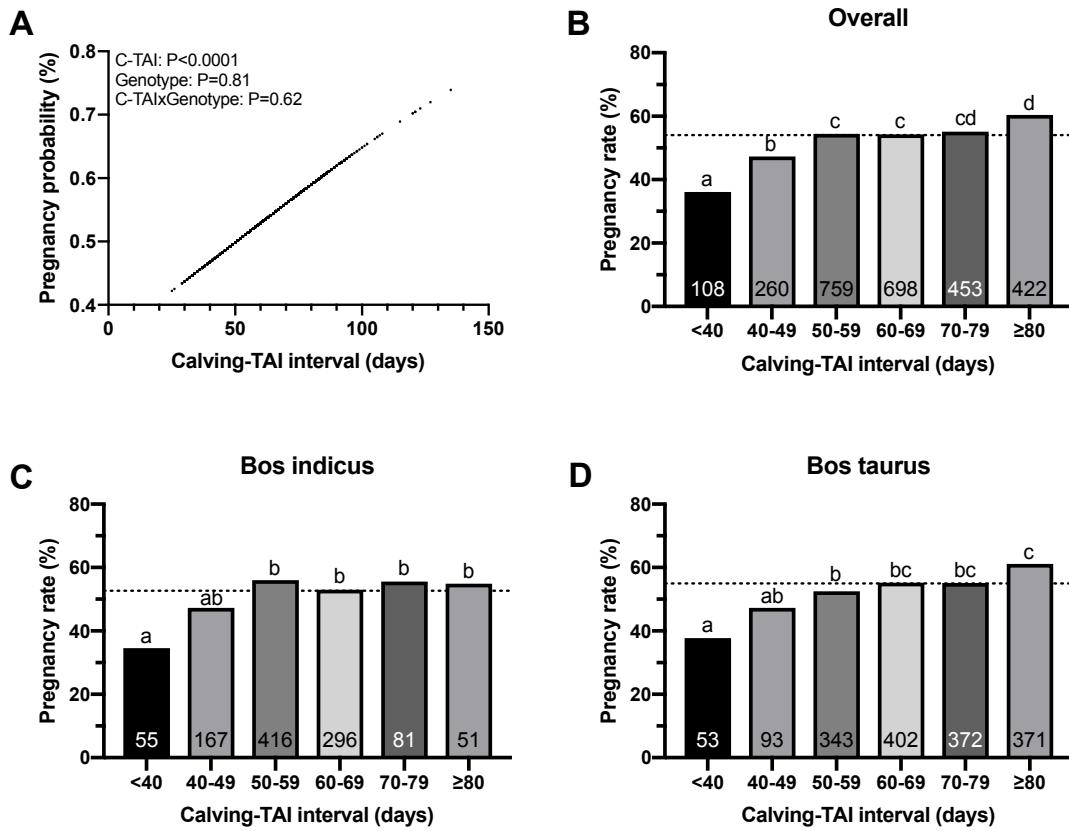
All continuous variables were tested for normality using the Shapiro-Wilk test. Analyses were performed using the JMP statistical package (SAS Institute Inc., Cary, NC), and the accepted significance level was  $P \leq 0.05$ .

## **3.4 RESULTS**

### **3.4.1 Experiment 1**

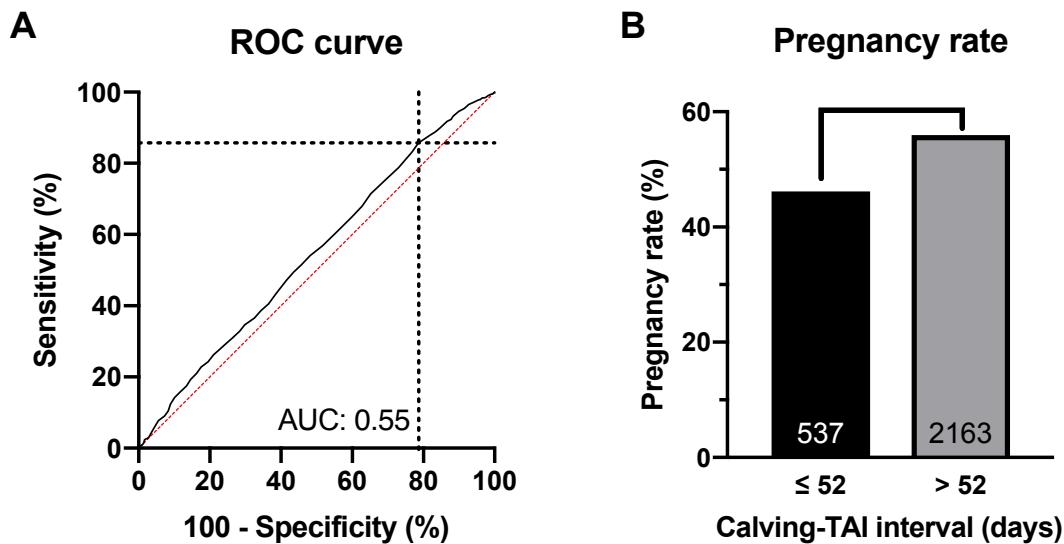
There was a linear effect of C-TAI interval on the pregnancy probability ( $P < 0.0001$ ; Fig. 1A). However, there was no effect or interaction with the genotype (*B. taurus* or *B. indicus*). The odds ratio for a 10-day increase in C-TAI was 1.1312; that is, a 10-day increase in C-TAI increased the probability of a cow becoming pregnant by 13%.

*Figure 1. Pregnancy probability (A) and pregnancy rate of overall (B), Bos indicus (C) or Bos taurus (D) cows subjected to TAI protocol with different calving to timed artificial insemination intervals (C-TAI). Different letters indicate a significant difference between the C-TAI interval classes ( $P < 0.05$ ). The dotted line indicates the overall population mean.*



The pregnancy rate differed in groups with different classes of C-TAI, regardless of genotype ( $P < 0.05$ ; Figure 1). ROC analysis was performed to determine the C-TAI in which the female would be more likely to become pregnant in the TAI, and we calculated an interval from 52 days after parturition (area under the curve [AUC] = 0.55; Fig. 2A). When females were stratified into two C-TAI interval groups, according to previous result ( $\leq 52$  days or  $> 52$  days), cow with C-TAI longer than 52 days (C-TAI $>52$ ) had higher pregnancy rate (56%) than cows with short C-TAI (46%;  $P < 0.01$ ; Figure 2B).

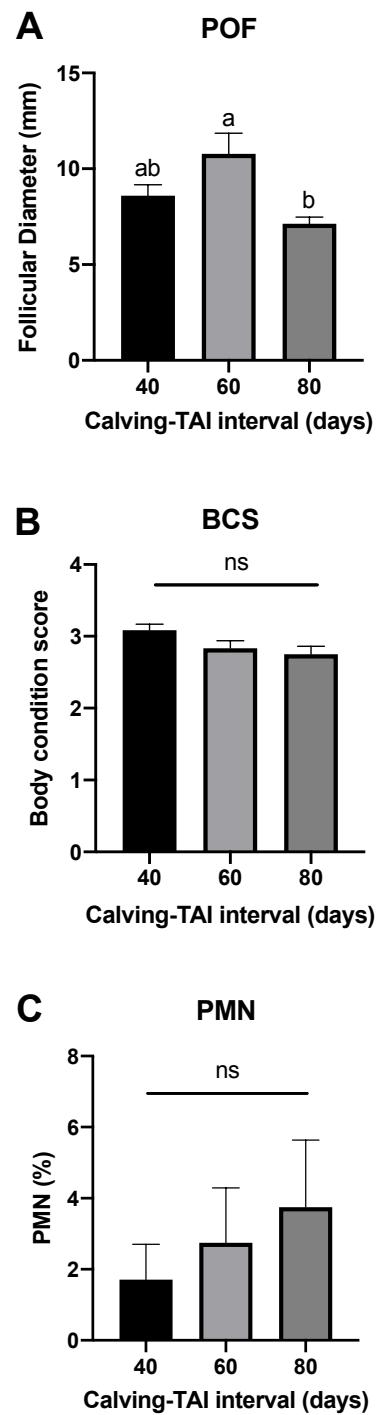
*Figure 2. A: Receiver operating characteristic (ROC) curve to achieve a pregnant cow on basis of calving-TAI interval. The dotted line is at larger sensitivity - (1 - specificity) value, that correspond 52 days of calving-TAI interval. B: Pregnancy rate in cows with an interval between calving and TAI equal to or less than 52 days or cows with an interval greater than 52 days. Asterisks (\*\*\* ) indicate a highly significant difference between groups ( $p < 0.001$ ). AUC: area under the curve.*



### 3.4.2 Experiment 2

The diameter of the preovulatory follicle was affected by C-TAI interval (Figure 3A;  $p < 0.05$ ). Cows with a 60-day C-TAI interval had larger preovulatory follicle than 80-day-old cows. C-TAI did not influence the ovulation rate ( $p > 0.05$ ), which was 50% (3/6) in all groups. There was no difference in BCS between animals of different C-TAI ( $p > 0.05$ ; Figure 3B). The increase in C-TAI did not reduce the number of neutrophils on endometrial cytology ( $p > 0.05$ ; Figure 3C).

*Figure 3. Diameter of the preovulatory follicle (POF) (A) body condition score (BCS) (B) and percentage of polymorphonuclear leukocytes (PMN) found in endometrial cytology using the Cytobrush technique (C) in cows with different intervals between calving and TAI. Different letters indicate a significant difference between groups ( $P<0.05$ ). NS: Not significant difference ( $P\geq0.05$ ).*



### 3.5 DISCUSSION

We evaluated the effect of C-TAI interval and its interaction with genetic groups on pregnancy rate of cows submitted to TAI protocol. Our hypothesis that there is an effect or interaction of the genetic group with C-TAI interval on probability of pregnancy was refuted. However, the effect of C-TAI interval on the pregnancy rate was highly significant, regardless of genetic group. Several studies aimed to increase the efficiency of TAI protocols, especially with changes in the hormonal protocol (TORTORELLA et al., 2013; USLENGHI et al., 2014; NÚÑEZ-OLIVERA; CUADRO; MENCHACA, 2019; MADUREIRA et al., 2020). However, these studies did not consider the interval between calving and initiation of the protocol, which in the present study we demonstrate has a significant effect on the efficiency of the TAI. We determined that TAI from 52 days after calving presents higher pregnancy rate, both in *B. indicus* and *B. taurus*.

We used a large number of animals, and the pregnancy rate was 54%. Most studies with TAI report a pregnancy rate of around 50% (SALES et al., 2012; PFEIFER et al., 2017; MADUREIRA et al., 2020; CEDEÑO et al., 2021). Allocating animals into groups, we found that at 50–59 days of C-TAI interval, cows had higher pregnancy rates, similar results to those found in crossbred cows with C-TAI from 50 days onwards (WILLIAMS; STANKO, 2020).

To achieve the 12-month average IEP, the TAI pregnancy rates must be optimized. We identified the minimum interval between C-TAI with satisfactory pregnancy results. Using 10-day TAI protocols, cows calved with 42 days or more would be subject to entering the hormonal manipulation protocol; therefore, they will be inseminated 10 days later, from 52 days of calving. Pfeifer et al. (2018), using *B. indicus* cows, advised starting the TAI protocol from 35 DPP because cows in a tropical climate show a rapid reduction in neutrophils after calving. The animals inseminated after 52 days postpartum showed a pregnancy 9% higher than those inseminated before. However, the AUC was 0.55; that means pregnancy based on C-TAI can be correctly predicted in only 55% of the animals, which is low for a binomial variable. Therefore, C-TAI>52 days can be used to recommend greater reproductive efficiency but, as expected, it can not be used to predict the pregnancy rate in a given population.

The preovulatory follicle diameter was larger in 60 days postpartum cows than cows 40 or 80 days after parturition. The decrease of preovulatory follicle size in 80 days C-TAI cows can be related to the high demand for milk by the calf, as they are lactating cows. Throughout development, calves increase the demand for milk (SAPKOTA et al., 2020). With greater demand for milk production by the mammary gland, the female enters into a negative energy balance that can be alleviated with better nutritional support (AYRES et al., 2014). This fact can be corroborated by the frequent decrease in body condition observed in animals after 60 days postpartum (SZURA et al., 2020).

At the time of calving, bacterial contamination of the endometrium and physical trauma leading to infection of the reproductive tract can occur (SHELDON et al., 2006). Subclinical endometritis is defined as the presence of 10% neutrophils in the endometrium (KASIMANICKAM et al., 2004) and absence of clinical secretions (SHELDON et al., 2006). In dairy cattle, the presence of *Escherichia coli* was associated with lower concentrations of progesterone and prolonged luteal phase (SHELDON et al., 2009). Furthermore, the increase in neutrophils decreased the probability of postpartum conception and increased the service rate per conception in dairy cattle (AHMADI; KADIVAR; VATANKHAAH, 2016). In the present study, regardless of the C-TAI, the animals presented low percentages of neutrophils in the endometrium; there was an absence of uterine pathologies, demonstrating the ability of cows to re-establish uterine health 40 days after parturition. Taken together, our findings suggest that the greater reproductive efficiency observed in beef cows with more than 52 days postpartum is more closely associated with cyclicity than the uterine environment.

The present study was carried out with a representative number of cows from different farms in Brazil's north and south regions and different genotypes. Therefore, we can safely indicate the best C-TAI, allowing for planning the best time to perform TAI protocols. Using these findings, farmers and field technicians should wait for at least 52 days of C-TAI interval to optimize conception rate at TAI.

### 3.6 CONCLUSION

The interval between calving and TAI influences the pregnancy rate, but without an effect or interaction with the genotype (*B. taurus taurus* or *B. taurus indicus*). Furthermore, the minimum interval from calving to the TAI should be 52 days to achieve a higher pregnancy rate.

### 3.7 ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the farms where the experiments were carried out for providing the animals. The authors especially grateful to Fazenda Tomazi, Maria Isabel Torres and Rodrigo Ferreira for providing animals and management facilities.

The Foundation for Research and Innovation Support of Santa Catarina (FAPESC; term 2019TR99) and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES; Code 001) funded the study.

### 3.8 CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare that there are no conflicts of interest.

### 3.9 AUTHOR'S CONTRIBUTIONS

All authors participated in the proposal and experimental design. JTF performed the experiments and wrote the manuscript. RF analyzed the data and revised the manuscript. All authors reviewed and agreed with the final version of the manuscript.

### 3.10 ETHICS COMMITTEE APPROVAL

The Animal Experimentation Ethics Committee of the State University of Santa Catarina evaluated and approved all procedures involving animals - CEUA nº 8637091020.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A procura por melhores índices reprodutivos é incessante, pois buscamos obter IEP médio de 12 meses, contando com curto período para a vaca ficar gestante novamente após o parto. Com os dados obtidos neste trabalho, podemos compreender que na bovinocultura de corte devemos ter período de espera voluntária de 52 dias, tanto em fêmeas zebuínas como taurinas. Existe um efeito linear do IP-IATF sobre a taxa de prenhez. Ainda, vacas com 60 dias pós-parto apresentaram maior folículo pré-ovulatório, desta forma é importante esperar o período voluntário, mas nos atentar com o atraso da exposição da fêmea ao período de estação de monta. As matrizes apresentaram rápido reestabelecimento da saúde uterina, portanto a espera voluntária está mais relacionada com a ciclicidade da fêmea.

## REFERÊNCIAS

- AHMADI, M. R.; KADIVAR, A.; VATANKHAH, M. Evaluation of polymorphonuclear (PMN) cells in cervical sample as a diagnostic technique for detection of subclinical endometritis in dairy cattle. **Asian Pacific Journal of Reproduction**, v. 5, n. 4, p. 340–344, 1 jul. 2016.
- AYRES, H. et al. Inferences of body energy reserves on conception rate of suckled Zebu beef cows subjected to timed artificial insemination followed by natural mating. **Theriogenology**, v. 82, n. 4, p. 529–536, 1 set. 2014. . Acesso em: 11 nov. 2021.
- BARUSELLI, P. S. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 479–486, 2004.
- BARUSELLI, P. S. Avaliação do mercado de IATF no Brasil (2019). **Boletim Eletrônico do Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP**, v. 2019, p. 1, 2020.
- BAYARD, P. et al. ANESTRO PÓS-PARTO EM VACAS DE CORTE. 2001.
- BEAM, S. W.; BUTLER, W. R. Energy Balance and Ovarian Follicle Development Prior to the First Ovulation Postpartum in Dairy Cows Receiving Three Levels of Dietary Fat. **Biology of Reproduction**, v. 56, n. 1, p. 133–142, 1 jan. 1997.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTÍNEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in Bos indicus cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3–4, p. 307–326, 2003.
- CARVALHO, J. B. P. et al. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in Bos indicus, Bos indicus × Bos taurus, and Bos taurus heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 2, p. 167–175, 2008.
- CEDEÑO, A. V. et al. Effect of expression of estrus and treatment with GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an estradiol/progesterone-based protocol. **Theriogenology**, v. 161, p. 294–300, 1 fev. 2021.
- CREPALDI, G. A. et al. Effect of induction of ovulation with estradiol benzoate at P4 device removal on ovulation rate and fertility in Bos indicus cows submitted to a TAI protocol. **Animal reproduction science**, v. 209, 1 out. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31514931/>>. Acesso em: 24 jan. 2022.
- DISKIN, M. G. et al. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3–4, p. 345–370, 15 out. 2003.

- GILBERT, R. O. et al. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 64, n. 9, p. 1879–1888, dez. 2005.
- GIMENES, L. U. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in Bos indicus heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 852–858, 2008.
- INCHAISSRI, C. et al. Analysis of the economically optimal voluntary waiting period for first insemination. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 8, p. 3811–3823, 1 ago. 2011.
- JOOSTEN, I.; SANDERS, M. F.; HENSEN, E. J. Involvement of major histocompatibility complex class I compatibility between dam and calf in the aetiology of bovine retained placenta. **Animal Genetics**, v. 22, n. 6, p. 455–463, 1991.
- KASIMANICKAM, R. et al. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, v. 62, n. 1–2, p. 9–23, 1 jul. 2004.
- KASIMANICKAM, R. et al. The effect of a single administration of cephapirin or cloprostestol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. **Theriogenology**, v. 63, n. 3, p. 818–830, 2005.
- LARSON, L. L. et al. Relationship of physiological factors to placental retention in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 9, n. 1, p. 31–43, 1 jul. 1985.
- LEBLANC, S. J. et al. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 9, p. 2223–2236, 2002.
- MADUREIRA, G. et al. Progesterone-based timed AI protocols for Bos indicus cattle II: Reproductive outcomes of either EB or GnRH-type protocol, using or not GnRH at AI. **Theriogenology**, v. 145, p. 86–93, 2020.
- MURPHY, B.; MARTINUKE, S. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrine reviews**, v. 12, n. 1, p. 27–44, 1991.
- NÚÑEZ-OLIVERA, R.; CUADRO, F.; MENCHACA, A. Is prostaglandin F<sub>2α</sub> administration at the beginning of a progesterone and estradiol-based treatment for FTAI an effective strategy in Bos taurus heifers? **Animal Reproduction Science**, v. 210, n. August, p. 106201, 2019.
- OLSON, J. D. et al. Aspects of bacteriology and endocrinology of cows with pyometra and retained fetal membranes. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, n. 11, p. 2251–2255, 1 nov. 1984.
- OPSMER, G. et al. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: A field study. **Theriogenology**, v. 53, n. 4, p. 841–857, 1 mar. 2000.

- PFEIFER, L. F. M. et al. Comparison between two estradiol-progesterone based protocols for timed artificial insemination in blocks in lactating Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, v. 181, p. 125–129, 1 jun. 2017.
- PFEIFER, L. F. M. et al. Uterine inflammation and fertility of beef cows subjected to timed AI at different days postpartum. **Animal Reproduction Science**, v. 197, p. 268–277, 1 out. 2018.
- PRATA, A. B. et al. Progesterone-based timed AI protocols for Bos indicus cattle III: Comparison of protocol lengths. **Theriogenology**, v. 152, p. 29–35, 1 ago. 2020.
- RHODES, P. M.; ENTWISTLE, K. W.; KINDER, J. E. Changes in ovarian function and gonadotropin secretion preceding the onset of nutritionally induced anestrus in Bos indicus heifers. **Biology of Reproduction**, v. 55, n. 6, p. 1437–1443, 1996.
- RIBEIRO, E. S. et al. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 9, p. 5682–5697, 1 set. 2013.
- RICCI, A. et al. Subclinical endometritis in beef cattle in early and late postpartum: Cytology, bacteriology, haptoglobin and test strip efficiency to evaluate the evolution of the disease. **Theriogenology**, v. 94, p. 86–93, 1 maio 2017.
- RUDER, C. A. et al. Uterine infections in the postpartum cow. II. Possible synergistic effect of Fusobacterium necrophorum and Corynebacterium pyogenes. **Theriogenology**, v. 15, n. 6, p. 573–580, 1 jun. 1981.
- SÁ FILHO, M. F. et al. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled Bos indicus cows. **Animal Reproduction Science**, v. 120, n. 1–4, p. 23–30, 2010a.
- SÁ FILHO, M. F. et al. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (Bos indicus) heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 118, p. 182–187, 2010b.
- SALES, J. N. S. et al. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in Bos indicus cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 78, n. 3, p. 510–516, 2012.
- SAPKOTA, D. et al. Quantification of cow milk yield and pre-weaning calf growth response in temperate pasture-based beef suckler systems : A meta-analysis. **Livestock Science**, v. 241, n. March, p. 104222, 2020.
- SARTORI, R. et al. **Physiological differences and implications to reproductive management of Bos taurus and Bos indicus cattle in a**

tropical environment. **Society of Reproduction and Fertility supplement**, 2010. .

SARTORI, R. et al. Metabolic and endocrine differences between Bos taurus and Bos indicus females that impact the interaction of nutrition with reproduction. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 32–40, 2016.

SEMAMBO, D. K. et al. Early abortion in cattle induced by experimental intrauterine infection with pure cultures of *Actinomyces pyogenes*. **The Veterinary record**, v. 129, n. 1, p. 12–16, 1991.

SHELDON, I. M. et al. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. **Reproduction**, v. 123, n. 6, p. 837–845, 2002.

SHELDON, I. M. et al. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v. 65, n. 8, p. 1516–1530, maio 2006.

SHELDON, I. M. et al. Uterine diseases in cattle after parturition. **Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 115–121, abr. 2008.

SHELDON, I. M. et al. Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle1. **Biology of Reproduction**, v. 81, n. 6, p. 1025–1032, 1 dez. 2009.

SHELDONS, I. M.; DOBSON, H. Reproductive challenges facing the cattle industry at the beginning of the 21st century. **Reproduction (Cambridge, England) Supplement**, v. 61, p. 1–13, 2003.

SILVEIRA, A. P. da et al. Efeito Do Período Pós-Parto Sobre a Taxa De Prenhez De Vacas De Corte Submetidas À latf (Inseminação Articial Em Tempo Fixo). **Colloquium Agrariae**, v. 05, n. 1, p. 40–45, 2010.

STANGAFERRO, M. L.; WIJMA, R. W.; GIORDANO, J. O. Profitability of dairy cows submitted to the first service with the Presynch-Ovsynch or Double-Ovsynch protocol and different duration of the voluntary waiting period. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 5, p. 4546–4562, 1 maio 2019.

SZURA, G. et al. Gain and loss of subcutaneous and abdominal adipose tissue depot mass of German Holstein dairy cows with different body conditions during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 12, p. 12015–12032, 1 dez. 2020.

TORTORELLA, R. D. et al. The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 79, n. 8, p. 1204–1209, 2013.

USLENGHI, G. et al. Effect of estradiol cypionate and amount of progesterone in the intravaginal device on synchronization of estrus, ovulation and on

pregnancy rate in beef cows treated with FTAI based protocols. **Animal Reproduction Science**, v. 145, n. 1–2, p. 1–7, 1 fev. 2014.

VASCONCELOS, J. L. M. et al. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 52, n. 6, p. 1067–1078, 1 out. 1999.

WILLIAMS, G. L. et al. Mechanisms regulating suckling-mediated anovulation in the cow. In: Animal Reproduction Science, 1–4, **Anais...Elsevier B.V.**, 1 abr. 1996.

WILLIAMS, G. L.; STANKO, R. L. Pregnancy rates to fixed-time AI in Bos indicus-influenced beef cows using PGF<sub>2α</sub> with (Bee Synch I) or without (Bee Synch II) GnRH at the onset of the 5-day CO-Synch + CIDR protocol. **Theriogenology**, v. 142, p. 229–235, 15 jan. 2020.

## ANEXO A – COMPROVANTE DO CEUA

---



***Comissão de Ética no  
Uso de Animais***

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Saúde uterina e eficiência reprodutiva de vacas de corte bos indicus e bos taurus com diferentes intervalos entre parto e inseminação artificial em tempo fixo", protocolada sob o CEUA nº 8637091020 (ID 001238), sob a responsabilidade de **Rogério Ferreira** e equipe; Juarez Tomazi Filho - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) na reunião de 15/10/2020.

We certify that the proposal "Uterine health and reproductive efficiency of bos indicus and bos taurus beef cows with different intervals from parturition to fixed-time artificial insemination", utilizing 2336 Bovines (2336 females), protocol number CEUA 8637091020 (ID 001238), under the responsibility of **Rogério Ferreira and team; Juarez Tomazi Filho** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the University of Santa Catarina State (CEUA/UDESC) in the meeting of 10/15/2020.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **10/2020** a **12/2020**      Área: **Zootecnia**

Origem:	<b>Animais de proprietários</b>	sex:	<b>Fêmeas</b>	idade:	<b>2 a 12 anos</b>	N:	<b>2336</b>
Espécie:	<b>Bovinos</b>					Peso:	<b>300 a 550 kg</b>
Linhagem:	<b>Nelore</b>						

---

Local do experimento: Propriedade comercial localizada em Saudade do Iguaçu no estado do Paraná

Lages, 09 de fevereiro de 2021

José Cristani  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Pedro Volkmer de Castilhos  
Vice-Cordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina